

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Jacqueline **MONNIER**

Licenciée ès-Sciences

Chef de Travaux délégué à la Faculté des Sciences de Nancy

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude de la structure de l'Échinuline.

2^{me} THÈSE. — Proposition donnée par la Faculté.
Contribution à l'étude biochimique et physiologique de l'acide γ - aminobutyrique.

Soutenues le **26 JUIN 1959** 1959 devant la Commission d'examen

Président M. E. URION

Examineurs. { MM. S. DAVID
J. GAYET

1959

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Jacqueline MONNIER

Licenciée ès-Sciences

Chef de Travaux délégué à la Faculté des Sciences de Nancy

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude de la structure de l'Échinuline.

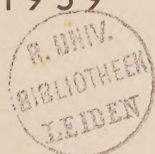
2^{me} THÈSE. — Proposition donnée par la Faculté.
Contribution à l'étude biochimique et physiologique de l'acide γ - aminobutyrique.

Soutenues le 1959 devant la Commission d'examen

Président M. E. URION

Examineurs. { MM. S. DAVID
J. GAYET

1959



PREMIÈRE THÈSE

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DE LA STRUCTURE
DE L'ÉCHINULINE

UNIVERSITE DE NANCY - FACULTE DES SCIENCES

Doyen : M. URION

Assesseur : M. ECHEVIN

Doyens honoraires : MM. HUSSON, CORNUBERT, DELSARTE

Professeurs honoraires : MM. DARMOIS E., GUTTON, CROZE, DARMOIS G.,
RAYBAUD, FALLOT, LAFFITTE, LERAY, HUSSON,
DONZELOT, JOLY, LAPORTE, EICHHORN, CAPELLE,
GODEMENT, DUBREIL, SCHWARTZ, DIEUDONNE,
de MALLEMANN, LONGCHAMBON, OLMER, DODE,
GAUTHIER.

Maîtres de conférences honoraires : MM. RAUX, LIENHART.

Professeurs :

MM. CORNUBERT, Chimie organique	MM. GIBERT, Chimie phys. et électro-
CHEVALLIER, Physique	chimie,
URION, Chimie biologique	HERVE, Calcul diff. et intégral
DELSARTE, Analyse supérieure	LEGRAS, Mécanique rationnelle
REMY, Zoologie	DAVID, Chimie biologique
ROUBAULT, Géologie	BOLFA, Minéralogie
GUERIN, Chimie industrielle	NICLAUSE, Chimie
VEILLET, Biologie animale	FAIVRE, Physique appliquée
ECHEVIN, Botanique	AUBRY, Chimie minérale
WAHL, Chimie org. industr.	COMOLET, Mécanique physique
BARRIOL, Chimie théorique	DUVAL, Génie chimique
BIZETTE, Physique	COPPENS, Radiogéologie
GILLIEN, Electronique	

Maîtres de conférences :

MM. WERNER, Botanique	MM. MALAPRADE, Chimie
FRUHLING, Radiotechnique	REGNIER, Chimie minérale
GAYET, Physiologie	LE GOFF, Génie chimique
MANGENOT, Phytopathologie	KERN, Minéralogie
LIONS, M. M. P.	WEPPE, Minéralogie appliquée
GARNIER, Agronomie	LERMUSIAUX, Physique de l'état
BRUHAT, Mathématiques génér.	métallique
SADRAN, Géochimie	BERNARD, Géologie
CHAPON, Chimie biologique	ARAGNOL, Mathématiques
HADNI, Physique	(propédeutique)
Mme ROIZEN, Physique	BONVALET, Mécanique appliquée
MM. HILLY, Géologie de la Lorraine	BASTICK, Chimie
RENARD, Physique théorique et nucléaire	

Secrétaire : M. LAPOINTE

A MA MERE

A MON MARI

A MON MAITRE

Monsieur S. DAVID
Professeur à la Faculté
des Sciences de Nancy

HOMMAGE RESPECTUEUX

AVANT-PROPOS

Le présent travail nous a été proposé par Monsieur S. David, Professeur à la Faculté des Sciences de Nancy. Il a été entièrement effectué dans son Laboratoire.

Nous exprimons à notre Maître notre profonde gratitude pour les conseils qu'il nous a continuellement prodigués et pour la formation que nous avons pu acquérir sous sa bienveillante direction.

Nos vifs remerciements vont également à Monsieur le Doyen Urion qui a bien voulu accepter de faire partie de notre Jury et à Monsieur le Professeur Gayet qui a bien voulu nous donner notre deuxième sujet.

Enfin nous sommes heureux d'associer à ce travail tous ceux qui nous ont aidé, en particulier tous nos camarades de laboratoire qui nous ont toujours témoigné leur sympathie.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

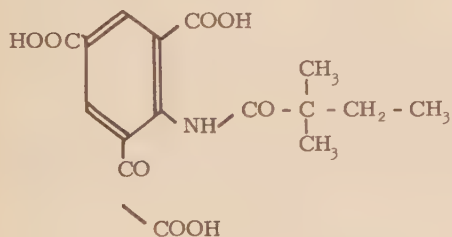
https://archive.org/details/IA41555801_0030

BIBLIOGRAPHIE ET INTRODUCTION

En 1943, Quilico et Panizzi découvraient l'Echinuline (1). C'est un métabolite azoté caractéristique d'un certain nombre de moisissures du groupe de l'*Aspergillus glaucus* (*Aspergillus échinulatus*, *Aspergillus ruber*, *Aspergillus amstelodami*). On l'extraît à raison de 3 à 5 g pour 100 g de mycélium sec (2) sous forme d'une substance blanche cristalline de formule brute $C_{28}H_{37}O_2N_3$, à caractère neutre et contenant trois doubles liaisons facilement hydrogénables.

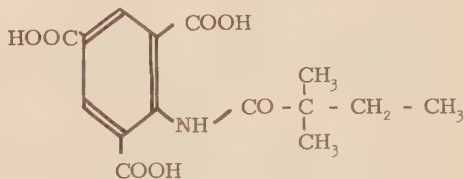
De 1948 à 1954, Quilico et ses collaborateurs ont mis en évidence un certain nombre d'éléments de structure essentiels (3, 4, 5) :

Etudiant l'oxydation permanganique du sel de potassium de la forme acide de l'hexahydroéchinuline (obtenu par une longue ébullition de cette substance dans la potasse alcoolique), ils réussirent à isoler quatre acides azotés. En s'appuyant sur les relations existant entre ces substances, sur l'étude chimique directe et sur la synthèse des plus simples d'entre elles, ils ont pu leur attribuer respectivement les structures I, II, III, IV. Ils prouvaient ainsi l'existence, dans la structure de l'échinuline et de son dérivé hydrogéné : d'un noyau benzénique sur lequel sont insérées en position symétrique 1, 3, 5, 3 chaînes carbonées et d'un enchaînement carbone-azote tel que celui de la formule V.



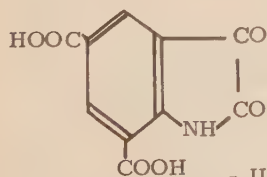
- I -

Acide cryptoéchinulinique
ou acide N - α diméthylbutyryl
2, 4 dicarboxyl isatique



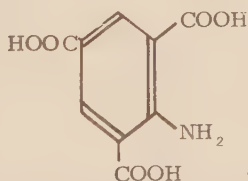
- II -

Acide infusible
ou acide N - α diméthylbutyryl
aminotrimésique



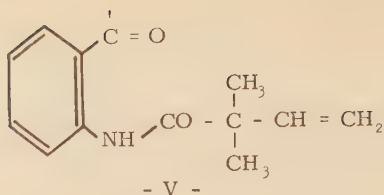
- III -

Acide xanthoéchinulinique
ou acide isatine 5, 7-dicarboxylique

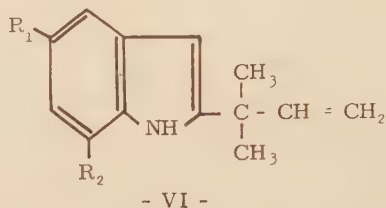


- IV -

Acide protoéchinulinique
ou acide aminotrimésique



Poursuivant leurs travaux (1955, 1956) les auteurs ont indiqué comme probable l'existence, dans l'échinuline, du système indolique (VI) à NH et à position 3 libres (6, 7, 8) :



Ils se basaient : sur l'étude chimique des substances résultant de la pyrolyse des sels de potassium de l'échinuline et de l'hexahydroéchinuline saponifiées (notamment l'absence de propriétés basiques, la possibilité de réaliser une copulation avec les sels de diazonium et l'obtention d'acide infusible (II) dans l'oxydation permanganique du produit de pyrolyse du sel de potassium de l'hexahydroéchinuline),

sur leurs réactions colorées;

sur la comparaison de leurs spectres ultra-violet et infrarouges à ceux de modèles indoliques préparés par synthèse;

sur le fait que l'échinuline ainsi que son dérivé hydrogéné copulent également avec les sels de diazonium pour donner des dérivés azotés tout à fait analogues à ceux obtenus avec le 2, 5, 7 triméthylindole et les produits de pyrolyse;

sur les étroites analogies spectrales qui existent entre ces substances et l'échinuline;

enfin sur l'obtention de dérivés mononitrés par action de NO_2H à température ordinaire sur l'échinuline et l'hydroéchinuline.

Plus récemment (1957, 1958) dans les notes 8, 9, 10, Quilico et ses collaborateurs ont étudié plus particulièrement la partie restante de la molécule renfermant le résidu azoté et oxygéné de l'échinuline. Ils ont fait à ce sujet les expériences et observations suivantes :

- la répartition des deux atomes d'azote restants ne doit pas conférer de propriétés basiques à la molécule;

- l'ouverture hydrolytique par la potasse alcoolique n'entraînant le détachement d'aucun fragment de molécule et suivie de recyclisation par déshydratation peut-être attribuée à l'ouverture d'une liaison amidique cyclique;

- les spectres infrarouges de l'échinuline et de son dérivé hydrogéné montrent de façon évidente la présence de groupes amidiques cycliques $\text{CO} - \text{NH}$ (bande assez intense et dédoublée à 1680 cm^{-1}). Il existe en outre d'étroites analogies spectrales entre l'hydroéchinuline et la diméthylidicétopipérazine;

- l'hydrolyse acide (par ébullition à reflux dans HBr à 48%) de l'hydroéchinuline fournit de la $\text{L}(+)$ alanine et un autre aminoacide beaucoup plus complexe;

- l'obtention d'acide cryptoéchinulinique (II) semble indiquer que le noyau dicétopipérazinique est uni au noyau benzénique par la position 7;

- la réduction par Al Li H_4 de l'échinuline et de l'hydroéchinuline fournit deux bases privées d'oxygène contenant le nombre primitif d'atomes de

carbone; l'étude des spectres infrarouges de ces bases et de leurs dérivés dinitrosomononitrés (obtenus par action du NaNO_3) permet de leur attribuer la structure de pipérazines substituées avec 2 NH libres.

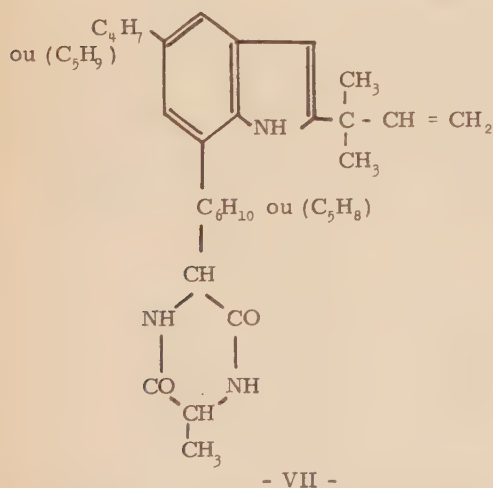
Quant à la nature des substituants en position 2, 5 et 7 du système indolique (VI) :

- la structure de la chaîne C_5 en position 2 a été établie chimiquement par la formation d'acide α - diméthylbutyrique dans l'oxydation permanganique de l'hydroéchinuline (3, 4) et dans l'hydrolyse bromhydrique du produit d'oxydation peracétique de la substance obtenue par pyrogénéation de l'hydroéchinuline saponifiée (10); l'existence du groupe vinylic $\text{CH} = \text{CH}_2$ a été déduite de l'apparition de bandes à 917 et 997 cm^{-1} sur le spectre infrarouge de l'échinuline (7) et de la production de formol par ozonolyse (5) et confirmée par le spectre infrarouge de la désoxyéchinuline (bandes à 912 et 999 cm^{-1}) (10);

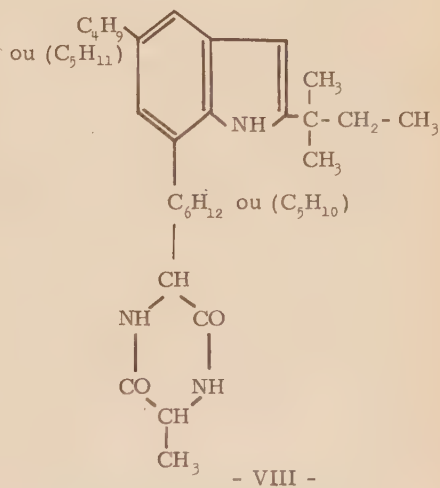
- des deux substituants en 5 et 7, l'un contient certainement un groupement $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$ (obtention d'acétone dans l'ozonolyse et dans l'oxydation permanganique douce de l'échinuline; formation d'acide isovalérique dans l'oxydation permanganique à chaud de l'hydroéchinuline (3, 4) et d'acide α - oxyisobutyrique dans l'oxydation poussée du produit de pyrogénéation de l'échinuline (6); bandes à 1368 et 1390 cm^{-1} dans le spectre infrarouge du produit de pyrogénéation de l'hydroéchinuline (10). Après leurs récents travaux (11) dans lesquels ils ont dosé l'acétone produite dans l'ozonolyse et dans l'oxydation permanganique de l'échinuline et de la désoxyéchinuline, les auteurs pensent même que chacune des chaînes en 5 et 7 renferme un groupement $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$ parce qu'ils ont obtenu expérimentalement une quantité d'acétone comprise entre 1 et 1,5 molécule par molécule de produit de départ.

Ainsi l'échinuline serait une dicétopipérazine résultant de la condensation d'une molécule de L(+) alanine avec une molécule d'un aminoacide indolique complexe.

Rendant compte de tout ce qui précède, le groupe de Milan a proposé pour cette substance et son dérivé hydrogéné les formules suivantes (VII) et (VIII) :



Echinuline



Hexahydroéchinuline

Il reste encore à interpréter la formation de bromure d'amyle tertiaire dans l'hydrolyse acide (par HBr) de l'hydroéchinuline (7), la formation de méthylamine dans la pyrolyse des sels de potassium de l'échinuline saponifiée (6),

à confirmer le mode d'union des noyaux indolique et dicétopipérazinique de la molécule;

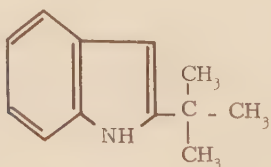
et à préciser la composition des chaînes latérales en positions 5 et 7 du noyau indolique.

Notre travail a eu pour objet de contribuer à l'étude chimique de l'Echinuline. Nous l'avons entrepris début 1953 alors que Quilico et ses collaborateurs n'avaient encore publié que des données incertaines. Si l'échinuline s'extraît avec un rendement suffisant pour pouvoir faire l'objet d'études biogénétiques (c'est là un de ses attraits), il n'en reste pas moins qu'il est difficile d'en accumuler de grosses quantités. En effet, les organismes producteurs ne se prêtent pas à une culture en grand. Ce fait a souvent, au cours de nos recherches, orienté le choix de nos méthodes de travail.

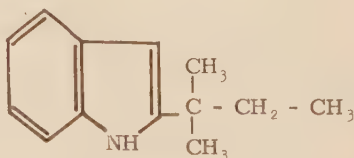
C'est ainsi que nous avons été amenés à étudier le mélange d'acides gras volatils obtenus dans l'oxydation permanganique (en milieu alcalin) de l'hexahydroéchinuline par chromatographie sur papier et sur colonne de silicagel, méthodes qui nous ont permis d'identifier quatre constituants à partir de quantités semimicrochimiques du mélange (12) et de retrouver les trois acides que Quilico et ses collaborateurs avaient séparés par distillation fractionnée de 20 g de mélange (3, 4).

En étudiant une nouvelle dégradation de l'échinuline et de son dérivé hydrogéné, à savoir l'action sur ces substances des acides perbenzoïque et perphtalique à 0°, nous avons pu apporter un argument chimique direct en faveur de l'élément de structure VI. L'échinuline, en effet, donne une réaction caractéristique des indoles : ouverture du cycle entre les carbones 2 et 3 avec formation d'un anilide de l'acide diméthylvinylacétique. En obtenant de l'acide diméthylvinylacétique par hydrolyse acide de cet anilide nous avons confirmé de façon sûre la structure de la chaîne en position 2 du système indolique (13, 14).

Witkopets ses collaborateurs (15) avaient montré que dans un certain nombre de cas, les peracides ouvrent entre les carbones 2 et 3 le cycle de dérivés indoliques non substitués à l'azote, avec fixation de deux atomes d'oxygène et formation d'ortho-acyl-anilides. D'après les données publiées, le cours de la réaction est très incertain sur les indoles simples, en particulier monosubstitués en 2. Avant d'étudier la réaction sur l'échinuline, nous avons donc été amenés à examiner le comportement de deux analogues simples synthétisés à cette fin : le tert-butyl - 2 indole (IX) et le tert-pentyl - 2 indole (X).



- IX -



- X -

Nous avons constaté que l'action de l'acide perphtalique sur le tertbutyl-2 indole à 0° conduit à l'acide N - pivalyl anthranilique et à une fraction neutre. Cette fraction neutre abandonnée en solution dans l'éther de pétrole donne des

cristaux jaunes isomères et distincts de l'aldéhyde N - pivalyl anthranilique . Dans les mêmes conditions le tert-pentyl-2' indole donne également un acide . Le traitement acide des produits neutres d'oxydation de ces deux indoles conduit respectivement aux acides pivalique et diméthyl-2, 2 butyrique.

CHAPITRE I

ÉTUDE ANALYTIQUE DU MÉLANGE D'ACIDES GRAS OBTENU PAR OXYDATION PERMANGANIQUE DE L'HEXAHYDROÉCHINULINE

L'oxydation permanganique, en milieu alcalin, de l'hexahydroéchinuline donne, à côté de produits résineux, un mélange d'acides gras entraînables à la vapeur avec un rendement de 14%.

Pour étudier ce mélange apparemment difficile à analyser, surtout en petite quantité, nous avons examiné deux méthodes publiées :

- la chromatographie sur papier des sels d'éthylamine d'acides gras volatils (16);

- la chromatographie sur silicagel des dérivés paraphénylphénacyle (17, 18). A partir de 2,89 g d'hexahydroéchinuline, nous avons obtenu le mélange (sels de sodium : 630 mg; acides libres : 470 mg) dans lequel nous avons pu mettre en évidence quatre acides.

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

Il est pratiquement impossible de chromatographier les acides gras volatils à l'état libre car ils disparaissent au cours du développement du chromatogramme. La méthode de Hiscox et Berridge (16) consiste à les déposer sur le papier sous forme de sels d'éthylamine, le développement se faisant avec du butanol saturé d'eau, contenant de l'éthylamine.

Nous avons fait les remarques suivantes à propos de cette méthode. Les auteurs indiquent que la concentration de l'éthylamine dans la phase mobile n'est pas critique, mais que l'on a avantage à la maintenir très basse pour avoir, lors de la révélation par le vert de bromocrésol, un contraste plus grand entre le fond du chromatogramme et les tâches correspondant aux acides. Effectivement, si l'on emploie trop d'éthylamine dans la phase mobile, le fond trop bleu met trop longtemps à faner si bien que les tâches fanent simultanément. Par contre, avec trop peu d'éthylamine ($\frac{N}{500}$) nous n'avons pas observé de migration. Une grande difficulté de la méthode tient à la volatilité des acides, même sous forme de sels d'éthylamine. Tout procédé destiné à activer le séchage, un délai excessif entre le dépôt des tâches et le début de la chromatographie, enfin l'emploi d'une cuve à chromatographie trop grande (type Shandon 84x82x23) ont pour effet de les faire disparaître.

CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE DE SILICAGEL

Les esters paraphénylphénacyles soigneusement purifiés ont une fluorescence bleue en lumière ultra-violette. Ils peuvent être adsorbés sur silicagel (les dérivés à poids moléculaire élevé l'étant le moins). Ces deux propriétés sont exploitées dans cette méthode (18) qui consiste à développer la zone des

esters paraphénylphénacyles par un mélange benzène-éther de pétrole (1 : 1) dont l'indice de réfraction est tel qu'il rend l'adsorbant translucide. Avec le silicagel Davison (28-200) utilisé directement, nous avons eu une migration lente (60 heures pour 12 cm). Nous avons utilisé également le silicagel Merck, broyé, tamisé (100-250), lavé à l'acide chlorhydrique (1 : 1) pour éliminer toutes traces de fer en provenance du broyeur à boulets, puis à l'eau et à l'acétone, séché à l'air et enfin une nuit sous vide sur P_2O_5 . Le développement est beaucoup plus rapide (12 h pour 12 cm). Ni l'un ni l'autre de ces deux adsorbants ne permet de séparer directement autre chose que le constituant le plus abondant du mélange (correspondant à l'acide α -diméthylbutyrique). Par des chromatographies répétées, nous avons pu isoler les dérivés cristallisés de l'acide diméthylbutyrique, de l'acide isovalérique et de l'acide isobutyrique, les deux premiers en quantité suffisante pour permettre une analyse.

PARTIE EXPERIMENTALE

Obtention du mélange d'acides - Par oxydation permanganique, en solution aqueuse alcaline, d'hexahydroéchinuline (2,89 g) en suivant les indications de A. Quilico, L. Panizzi et V. Rosnati (3), on obtient le mélange d'acides volatils (0,470 g).

Chromatographie sur papier - On neutralise une solution du mélange d'acides (50 mg) dans l'alcool absolu (10 cm³) par une solution $\frac{N}{10}$ d'éthylamine dans l'alcool, en présence de vert de bromocrésol. Les acides témoins sont convertis en sels d'éthylamine de la même façon. On dépose une goutte (3 à 4 mm³) de chaque solution alcoolique sur le papier et on laisse sécher un quart d'heure à température ambiante. On développe avec une solution $\frac{N}{200}$ d'éthylamine dans le butanol saturé d'eau dans une cuve Shandon tout verre (57 x 21 x 15). Après avoir sorti le papier de la cuve, on laisse sécher une heure à froid, puis on vaporise une solution alcoolique de vert de bromocrésol (40 mg/100 cm³) ajustée au pH 5,4 avec de la soude $\frac{N}{10}$. Les tâches apparaissent immédiatement en bleu sur un fond bleu plus pâle qui devient rapidement verdâtre. Avec le mélange inconnu, apparaissent quatre tâches que nous appellerons, dans l'ordre des R_f croissants, a, b, c, d. Nous indiquons pour chacune le R_f avec, à côté, celui des composés connus voisins sur le chromatogramme :

- a) 0,13; acide acétique : 0,12;
- b) 0,30; acide isobutyrique : 0,30;
acide butyrique : 0,32;
- c) 0,43; acide isovalérique : 0,42;
acide méthyléthylacétique : 0,41;
- d) 0,57.

a) correspond vraisemblablement à l'acide acétique qui se forme régulièrement dans les oxydations énergiques de composés méthylés. L'acide formique est très près de l'acide acétique dans tous les types de chromatographie, mais le mélange n'a pas d'action réductrice sur le nitrate d'argent.

b) correspond à l'acide isobutyrique. Ceci apparaît plus nettement sur le papier qu'on ne peut le supposer d'après les R_f .

Une autre chromatographie a donné les résultats suivants : b) 0,36; acide isobutyrique : 0,36; acide butyrique : 0,39.

c) se rapproche de l'acide isovalérique, mais on ne peut arriver à une conclusion définitive.

d) enfin se trouve dans la région des acides en C_6 .

Chromatographie sur colonne de silicagel - On titre le mélange d'acides gras (250 mg) mis en suspension dans le minimum d'eau par une solution normale de carbonate de soude en présence de tournesol (2,35 cm³). On ajoute alors de l'alcool (2,5 cm³) puis le bromure de paraphénylphénacyle (275 x 2,35 = 646 mg). On fait bouillir à reflux une heure. Le produit cristallise au refroidissement (250 mg). Ces cristaux (A) sont dissous dans l'alcool et purifiés par passage sur une petite colonne de charbon animal - célite (mélange à poids égal). (A) récupéré par évaporation à sec de l'alcool (230 mg) est dissous dans un mélange benzène-éther de pétrole (1 : 1), adsorbé sur une colonne de silicagel Davison (3 x 20 cm) et développé sur toute la longueur de la colonne (examen en lumière ultra-violette) (durée 60 heures). On extrait la colonne et on la découpe en 8 parties égales numérotées à partir du haut de I à VIII :

- les fractions III, IV, V, VI, VII de points de fusion voisins sont réunies (100 mg) et recristallisées dans l'alcool. On obtient ainsi le dérivé de l'acide diméthyl-2,2 butyrique P F : 85° - 86°C, non modifié par mélange avec un spécimen authentique de même point de fusion;

Analyse : $C_{20}H_{22}O_3 = 310$

calculé % C : 77,41 H : 7,09

trouvé % C $\begin{cases} 77,55 \\ 77,58 \end{cases}$ H $\begin{cases} 7,34 \\ 7,34 \end{cases}$

- les fractions I et II réunies (92 mg) sont traitées de la même façon sur une colonne (1,8 x 22 cm) découpée en 6 parties (I' - VI'). Les fractions II', III', IV' réunies (70 mg) sont encore chromatographiées sur une 3ème colonne divisée en 4 (I'', IV''). La fraction I'' (18 mg) est recristallisée alternativement dans l'alcool et l'éther de pétrole jusqu'à point de fusion constant P F : 84° - 85°C non abaissé par mélange avec un spécimen authentique du dérivé correspondant de l'acide isobutyrique (PF : 85° - 87°C). Par recristallisation de la fraction III'' (26 mg) dans l'éther de pétrole, le point de fusion se fixe à 74°5 - 75°5 C. On recueille ainsi de petites quantités du dérivé isovalérique. Le résidu (B) (270 mg) obtenu par évaporation à sec de l'eau mère des cristaux A est également purifié sur colonne charbon-célite puis chromatographié sur gel de silice Merck (voir partie théorique) (2,3 x 35 cm). On opère cette fois par élution en recueillant des fractions successives de 250 cm³ au bas de la colonne (numérotées dans l'ordre I, VII);

- la fraction III contient le dérivé de l'acide diméthyl-2,2 butyrique (112 mg) PF : 85° - 86°5 C après recristallisation;

- les fractions V et VI réunies (78 mg) sont rechromatographiées et on recueille de la même façon 5 fractions de 250 cm³ d'éluat (I', V'). Les fractions I', II', III' réunies (40 mg) fondent après recristallisation à 73° - 75°C.

Analyse : $C_{19}H_{20}O_3 = 296$

calculé % C : 77,02 H : 6,75

trouvé % C : 77,14 H : 6,93

Le point de fusion n'est pas abaissé par mélange avec le dérivé authentique de l'acide isovalérique (PF : 76-78°C). Par mélange avec le dérivé de l'acide méthyléthylacétique (PF : 71°-72°C) il s'abaisse à 64°C.

CHAPITRE II

ACTION DE L'ACIDE PERBENZOÏQUE SUR L'ECHINULINE ET SON DÉRIVÉ HYDROGÉNÉ

En traitant l'Echinuline à 0° par de l'acide perbenzoïque en excès, on observe la fixation de 3 atomes d'oxygène pendant le premier quart d'heure, d'un quatrième pendant l'heure suivante puis une fixation lente pratiquement terminée après 24 heures (figure 1).

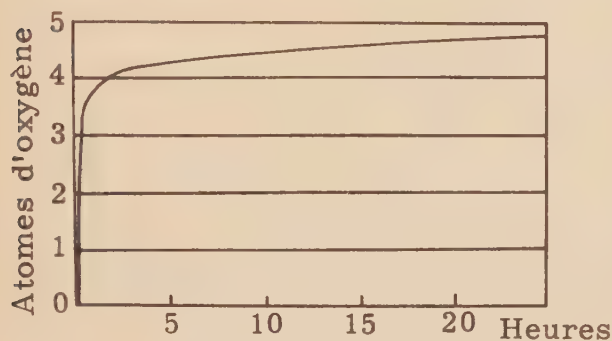
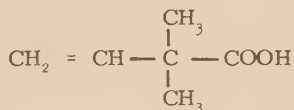


Fig. 1 - Oxydation de l'Echinuline par l'acide perbenzoïque.

En arrêtant la réaction après un quart d'heure et en hydrolysant le produit amorphe obtenu par l'acide benzène sulfonique, il se forme un acide entraînable à la vapeur avec un rendement de 11%. Cet acide peut être converti en un ester para-phénylphénacyle cristallisé qui a même composition, même point de fusion et même spectre infra rouge que le dérivé correspondant de l'acide diméthylvinylacétique (XI) (figure 2).

Le point de fusion n'est pas modifié par mélange avec le dérivé synthétique.



- XI -

Le choix de l'acide benzène sulfonique a été dicté par les considérations suivantes : il faut une concentration élevée en acide sulfurique pour hydrolyser les amides de ce type (au moins 50%), le produit est pratiquement insoluble dans ce mélange qui risque d'attaquer la double liaison. L'emploi d'acide acétique comme solvant rendrait difficile l'isolement de l'acide diméthylvinylacétique. Par contre, l'acide benzène sulfonique permet une séparation quantitative de l'acide pivalique par hydrolyse de ses amides comme nous avons pu le constater sur l'acide N-pivalylanthranilique. Cependant, dans les conditions utilisées, l'acide diméthylvinylacétique est partiellement décomposé : on n'en récupère que 27% après chauffage une heure à 100° dans l'acide benzène sulfonique. Le

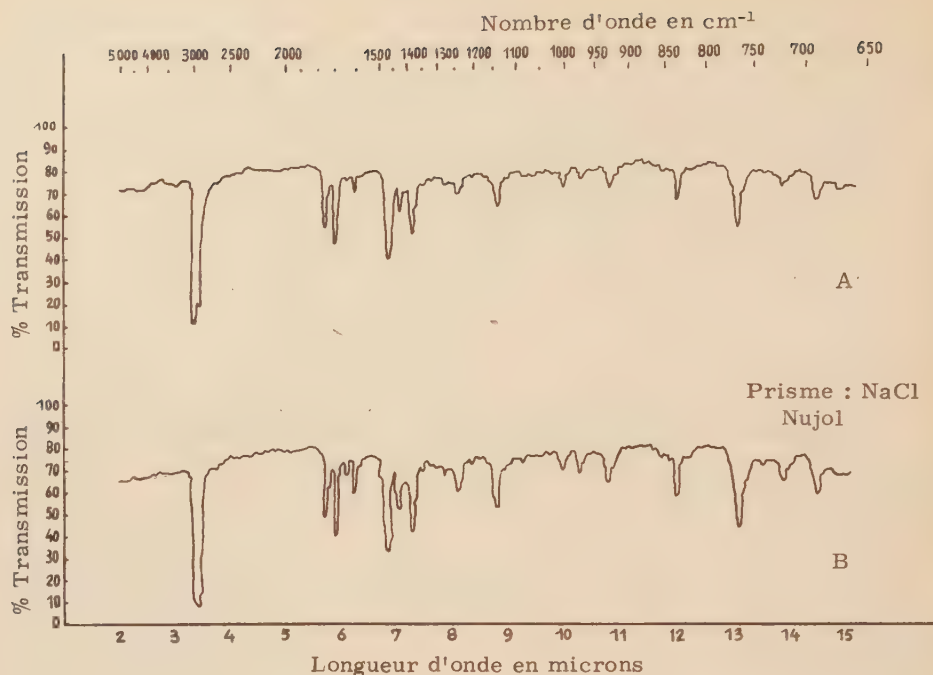
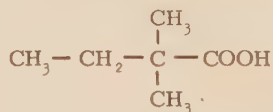


Fig. 2 - Spectres infrarouges des esters paraphénylphénacyles. A. de l'acide diméthylvinylacétique d'origine naturelle - B. de l'acide diméthylvinylacétique de synthèse.

rendement obtenu à partir de l'échinuline doit donc être considéré comme un minimum. Nous avons préparé l'acide diméthylvinylacétique selon la méthode de Courtot (19). Courtot avait prouvé la structure de son acide par oxydation permanganique qui donne de l'acide diméthylmalonique (72%). Nous avons trouvé, dans le spectre infrarouge du dérivé paraphénylphénacyle, deux bandes à 924 et 1 003 cm^{-1} qui caractérisent un groupement vinyle lorsque le carbone en α est complètement substitué et porteur d'une fonction (22) (figure 2).

Dans les mêmes conditions, avec l'hexahydroéchinuline, on observe la fixation de 2 atomes d'oxygène en une heure. La consommation se poursuit ensuite mais avec une vitesse environ vingt cinq fois plus faible. En arrêtant l'expérience après une heure et en effectuant le même traitement que pour l'échinuline, on obtient l'acide diméthyl-2, 2 butyrique (XII).



- XII -

L'examen de la courbe (figure 1) montre que le système indolique peut être plus réactif vis-à-vis des peracides que certaines doubles liaisons aliphatiques.

Le mécanisme préféré des oxydations des dérivés indoliques fait intervenir un intermédiaire indolénique. Celui-ci ne peut se former que si le NH indolique est libre, ce qui s'accorde avec les formules proposées par Quilico.

PARTIE EXPERIMENTALE

ACIDE DIMETHYLVINYLAÉTIQUE

Préparation - Selon la méthode de A. Courtot (19) par déshydratation et saponification du diméthyl-2,2 hydroxy-3 butyrate d'éthyle préparé d'après K. Folkers et H. Adkins (20).

Amide - PF : 97°-98°C en accord avec la publication de H. Kwart et R.K. Miller (21) alors que Courtot donne 93°C.

Ester paraphénylphénacyle - Préparé de la façon habituelle (25). Après recristallisation dans l'alcool PF : 90°-92°C (sans purification chromatographique).

Analyse $C_{20}H_{20}O_3 = 308$

calculé % C : 77,92 H : 6,49

trouvé % C : 77,78 H : 6,70

Spectre infrarouge - CH = CH₂ : 924, 1003 cm⁻¹
- C - CH₃ : (1370), 1380 cm⁻¹

Traitement par l'acide benzène sulfonique - 228 mg d'acide diméthylvinylacétique (2 mM) sont mis sur bain marie bouillant pendant 1 heure avec 4 g d'acide benzène sulfonique puis on procède à un entraînement à la vapeur et on neutralise le distillat (5,55 cm³ de NaOH $\frac{N}{10}$ - Rendement : 27%). L'acide ainsi recueilli est caractérisé par sa conversion en ester paraphénylphénacyle : PF : 89°-91°C non abaissé par mélange avec le dérivé synthétique de PF : 90°-92°C.

ACIDE N-PIVALYL ANTHRANILIQUE

Préparation - Voir chapitre III.

Hydrolyse acide - On chauffe sur bain-marie bouillant pendant 1 heure 0,500 g d'acide N-pivalylanthranilique (2,26 mM) avec 4 g d'acide benzène sulfonique. On ajoute ensuite de l'eau et on procède à l'entraînement à la vapeur de l'acide formé. La neutralisation du distillat nécessite 19,2 cm³ de NaOH $\frac{N}{10}$ (Rendement : 84,9%).

L'acide pivalique est caractérisé par son ester paraphénylphénacyle P.F. : 111°-112°C.

OXYDATION PERBENZOÏQUE DE L'ECHINULINE ET HYDROLYSE ACIDE DU PRODUIT D'OXYDATION

A une solution d'échinuline (2,245 g-5 millimolécules) dans le chloroforme refroidie à 0°, on ajoute une solution d'acide perbenzoïque (0,38 atome d'oxygène par litre - 60 cm³). On complète à 250 cm³. Après 10 mn de contact à 0°, le dosage montre qu'il y a eu fixation de 3 atomes d'oxygène par molécule d'échinuline. On extrait alors les acides par une solution refroidie à 0° de soude à 5%, on lave à l'eau la couche chloroformique jusqu'à neutralité, et on évapore le chloroforme (2,580 g) (Rendement quantitatif).

On ajoute l'acide benzène sulfonique (recristallisé à partir de sa solution aqueuse, 10 g) et on chauffe 1,5 heure sur bain-marie bouillant. Il y a homogénéité à peu près complète après 20 mn. On ajoute de l'eau et on procède à l'entraînement à la vapeur jusqu'à ce qu'il ne passe plus d'acide. Il faut pour neutraliser le distillat 5,3 cm³ de soude $\frac{N}{10}$ (Rendement : 11%). On évapore à sec le sel de sodium, reprend dans très peu d'eau, acidifie et extrait à l'éther. On sèche l'extrait étheré sur du sulfate de soude, évapore l'éther soigneusement, et neutralise les acides en présence de rouge de méthyle par une solution normale de carbonate de soude (0,42 cm³). On ajoute alors de l'alcool (1 cm³) et du bromure de paraphénylphénacyle (0,42 millimole - 115 mg) et on fait bouillir à re-

flux 1 heure. Le dérivé brut (PF : 85°-90°C; 123 mg) cristallise au refroidissement. On reprend les cristaux dans le minimum d'un mélange benzène-éther de pétrole (1 : 1) et on les chromatographie sur gel de silice en éluant avec le même mélange et en suivant l'élution en lumière ultra violette :

Fractions	Poids (mg)	P. F.
I	2	-
II	7,2	89°5-91°5
III	13,3	89°5-91°5
IV	13	90° -92°
V	10	90° -92°
VI	18	90° -92°
VII	29,8	89° -92°
VIII	10	87° -90°

Total : 103,5

On réunit les fractions III-VII (91,5 mg) et on les recristallise dans l'alcool. On obtient ainsi l'ester paraphénylphénacyle de l'acide diméthylvinylacétique (48,6 mg; PF : 92° - 93°C).

Analyse $C_{20}H_{20}O_3 = 308$

calculé % C : 77,92 H : 6,49

trouvé % C : $\begin{cases} 77,74 \\ 78,27 \end{cases}$ H : $\begin{cases} 6,94 \\ 6,82 \end{cases}$

Le point de fusion n'est pas modifié par mélange avec le dérivé authentique préparé ci-dessus, et les spectres infra rouges sont indiscernables (figure 2).

HEXAHYDROECHINULINE

Préparation - Par ébullition, pendant 2 heures, de l'échinuline (1 g) dans l'alcool (125 cm³) en présence de nickel de Raney, on obtient de l'hexahydroéchinuline brute (0,930 g) qu'on purifie par cristallisation dans l'alcool méthylique (0,765 g, PF : 242°C).

Oxydation perbenzoïque et hydrolyse acide du produit d'oxydation - On a procédé, comme pour l'échinuline, à partir de 2,5 millimolécules d'hexahydroéchinuline (1,132 g) et on a obtenu, par hydrolyse acide du produit d'oxydation (1,213 g. Rendement quantitatif), de l'acide diméthyl-2,2 butyrique (rendement 20%) que l'on a caractérisé par conversion en ester paraphénylphénacyle : PF : 86°5 C seul ou mélangé à un dérivé authentique de même point de fusion.

CHAPITRE III

ACTION DES ACIDES PERBÉNZOÏQUE ET PERPHTALIQUE SUR DEUX INDOLES SIMPLES SUBSTITUÉS

Pour mettre au point la dégradation de l'Echinuline et de son dérivé hydrogéné par l'acide perbenzoïque (voir chapitre II), nous avons étudié le comportement de deux indoles substitués en position 2, possédant une chaîne aussi voisine que possible de celle supposée existante dans l'échinuline : le tert-butyl-2 indole déjà connu (23) (IX) et le tert-pentyl-2 indole (X). Nous avons obtenu ce dernier par la méthode de Fischer à partir de la diméthyl-3, 3 pentanone-2 (XIII) que nous avons préparée par oxydation sulfochromique de l'alcool correspondant lui-même synthétisé selon G. Edgar, G. Calingaert et R. E. Marker (24) par action d'acétaldéhyde sur le magnésien du chlorure d'amyle tertiaire. C'est une huile [$E_{0,1\text{ mm}}$ 120° - 125°; Spectre ultraviolet : λ_{max} : 225 m μ ($\log \epsilon = 4,28$) et 274 m μ ($\log \epsilon = 3,94$) (figure 3)].

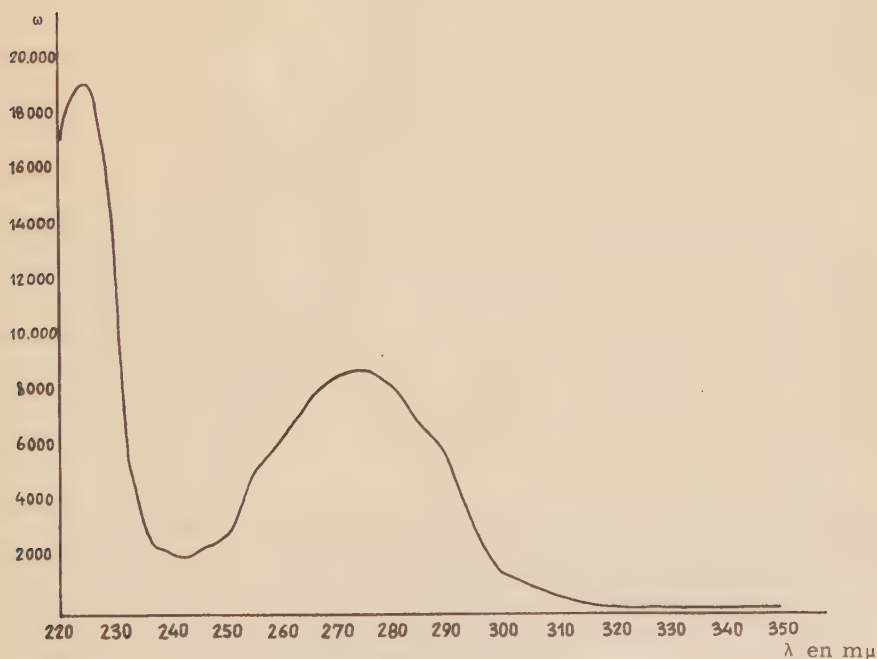
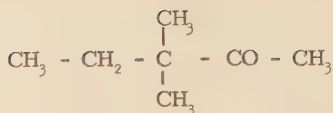
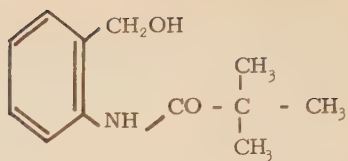


Fig. 3 - Spectre ultraviolet du tert-pentyl-2 indole.



- XIII -



- XVII -

L'addition d'une molécule de chlorure de pivalyle sur l'alcool ortho-aminobenzylrique en solution dans la pyridine produit exclusivement le dérivé N-acylé. Cet alcool N-pivalylorthoaminobenzylrique (XVII), par agitation dans l'éther avec du bioxyde de manganèse (27), est oxydé avec un rendement de 83% en aldéhyde N-pivalylanthranilique (XV). C'est un liquide mobile [$E_{b,25}^m$: 111°-117°; peut être élué d'une colonne d'alumine avec l'éther de pétrole; infra-rouge : - CHO : 1675 cm^{-1} - CO - NH - avec chélation : 3260 cm^{-1} , un épaulement à 3190 cm^{-1} (figure 4)]. Il donne très facilement une semicarbazone (F : 200°) et une dinitro-2,4 phénylhydrazone (F : 242°). L'oxyde d'argent le convertit normalement en acide, mais il est stable à froid en présence d'acide perbenzoïque.

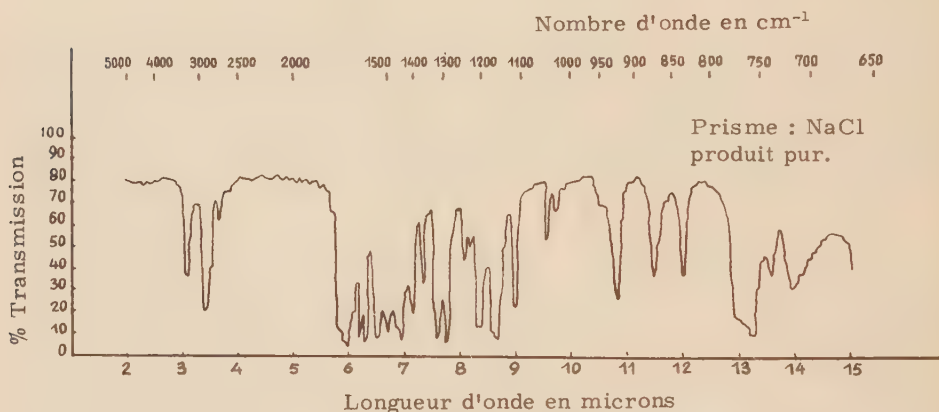


Fig. 4 - Spectre infrarouge de l'Aldéhyde N-pivalylanthranilique.

Le tert-butyl-2 indole et le tert-pentyl-2 indole, en solution chloroformique à 0° et en présence d'un excès d'acide perbenzoïque fixent en un quart d'heure 2, 6 atomes d'oxygène. Le système n'évolue plus à 0°. On se débarrasse de l'excès d'acide perbenzoïque par réduction par l'iodure de potassium et lavage à la soude (sur la figure 5, les courbes indiquent l'évolution de la réaction à 0°,

a) de l'acide perbenzoïque 0,25 M sur le tert-butyl-2 indole ou le tert-pentyl-2 indole en solution voisine de 0,05 M dans le chloroforme;

b) de l'acide perphtalique 0,19 M sur le tert-butyl-2 indole 0,04 M dans l'éther).

Alors que dans le cas de l'échinuline et de l'hexahydroéchinuline il y avait un rendement pratiquement quantitatif en produits neutres, dans la réaction des deux indoles simples α -substitués, une récupération de 72% seulement indique la formation de produits acides. Nous avons effectivement pu mettre en évidence, après la réaction (b) l'acide N-pivalylanthranilique dans la solution d'extraction alcaline (on en trouve également dans la fraction soluble dans la soude après oxydation perbenzoïque du tert-butyl-2 indole). Nous l'avons caractérisé par son comportement chromatographique sur papier, identique à celui de l'acide authentique (nous avons préparé l'acide N-pivalyl anthranilique (XIV) par action du chlo-

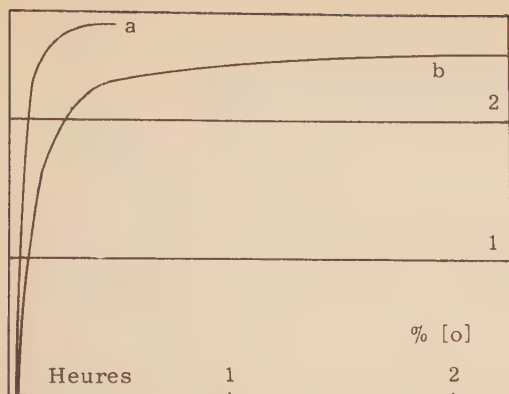
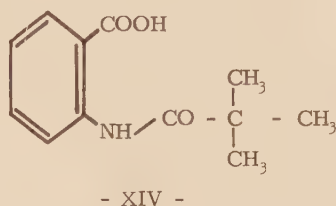


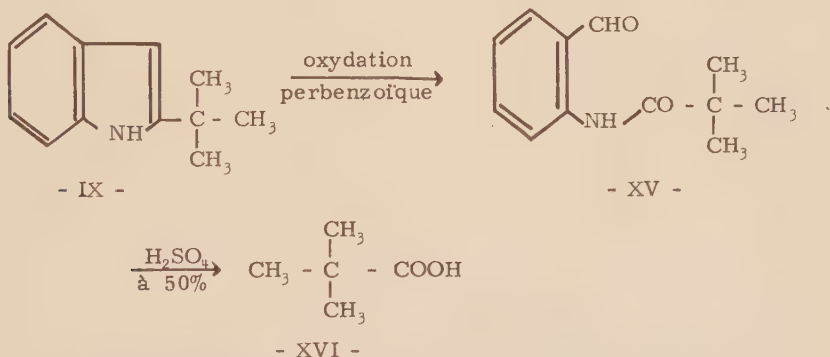
Fig 5

rure de pivalyle sur l'anthrani-
late de sodium sec) et par la
composition et le point de fusion
de son ester paraphénylphénacyle
comparé au dérivé de l'acide
synthétique.



Ceci constitue, à notre con-
naissance, le premier exemple de formation d'un acide par oxydation d'un indole
par un peracide en l'absence d'eau oxygénée. Nous ne pensons pas que l'aldéhyde
correspondant soit un intermédiaire car nous avons vu qu'il était stable dans nos
conditions de réaction.

Le traitement acide (acide sulfurique à 50%) des produits neutres bruts
obtenus par oxydation perbenzoïque du tert-butyl-2 indole (IX) et du tert-pentyl-2
indole (X) conduit respectivement aux acides pivalique (XVI) et diméthyl-2, 2
butyrique (XII). Nous pensons que cela pouvait correspondre à la suite de
réactions :



En fait, nous n'avons pas pu mettre d'aldéhyde N-acylé en évidence en
étudiant le produit neutre d'oxydation du tert-butyl-2 indole :

1) Oxydation perphtalique - Le traitement immédiat par la semicarbazide
permet d'obtenir un corps de composition voisine de celle de la semicarbazone
de l'aldéhyde N-pivalyl anthranilique $C_{12}H_{15}NO_2$ difficile à purifier, car il préci-
pite amorphe des solvants non hydroxylés et cristallise dans l'alcool méthylique
avec une molécule de solvant. Ce comportement est radicalement différent de
celui de l'échantillon authentique. D'une solution de la partie neutre dans l'éther
de pétrole précipitent, après plusieurs jours, des cristaux jaunes (F 185° - 190°)
dont la composition et la masse moléculaire (Rast) s'accordent avec la formule
 $C_{12}H_{15}NO_2$. Le spectre infra-rouge présente une bande - CO - à 1670 cm^{-1} et une
bande - CO - NH avec chélation à 3250 cm^{-1} (figure 6). Le spectre ultra-violet
(λ_{max} : $301\text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 3,6$) (figure 7) permet d'écarter une structure indoxyle
(λ_{max} : $400\text{ m}\mu$ (29)). L'hydrolyse acide libre de l'acide pivalique (34%). L'ébul-
lition en présence d'acide acétique et d'acétate de sodium les transforme en un
composé jaune plus pâle (F 243° - λ_{max} : $302\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,8$) et $380\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,6$))

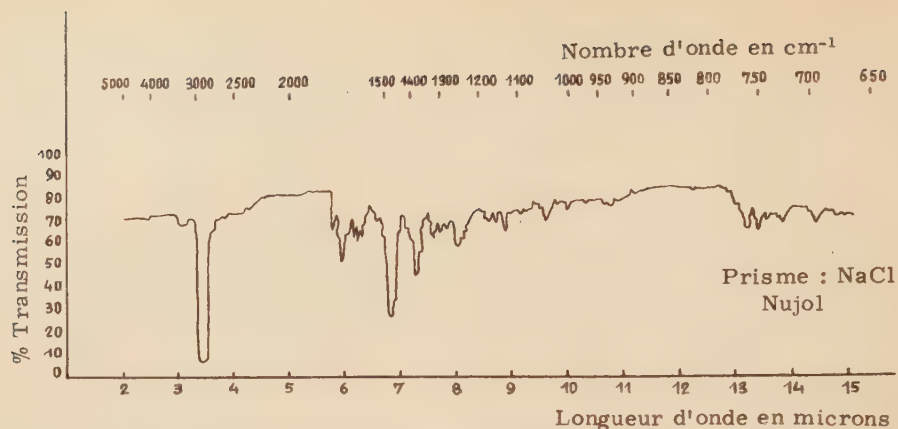


Fig. 6 - Spectre infrarouge des cristaux F 185° - 190°.

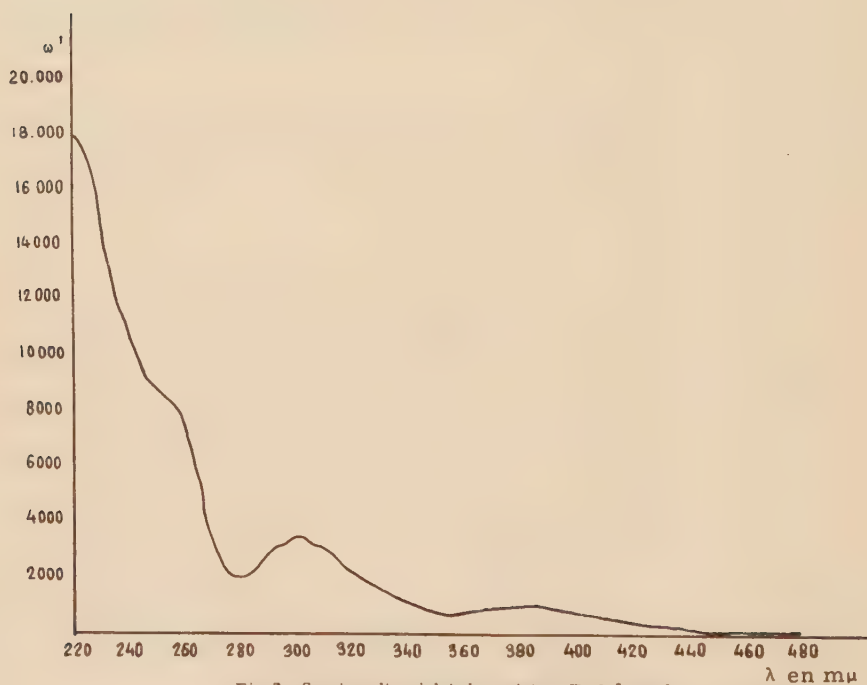


Fig. 7 - Spectre ultraviolet des cristaux F 185° - 190°

(figure 8)) dont la composition centésimale et la masse moléculaire s'accordent avec l'équation de réaction :



C'est également ce composé, F. 243°, que l'on obtient lorsque l'on cherche à préparer une semicarbazone par la méthode habituelle (chlorhydrate de semicarbazide et acétate de sodium dans l'alcool aqueux). Le traitement des cristaux, F. 185-190°, au borohydrure de sodium donne des cristaux jaunes de même composition centésimale $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$.

Des eaux-mères de cristallisation des cristaux F 185-190° on peut extraire après quelques mois de l'acide N-pivalyl anthranilique.

2) Oxydation perbenzoïque - La solution dans l'éther de pétrole donne après quelques mois de l'acide N-pivalyl anthranilique.

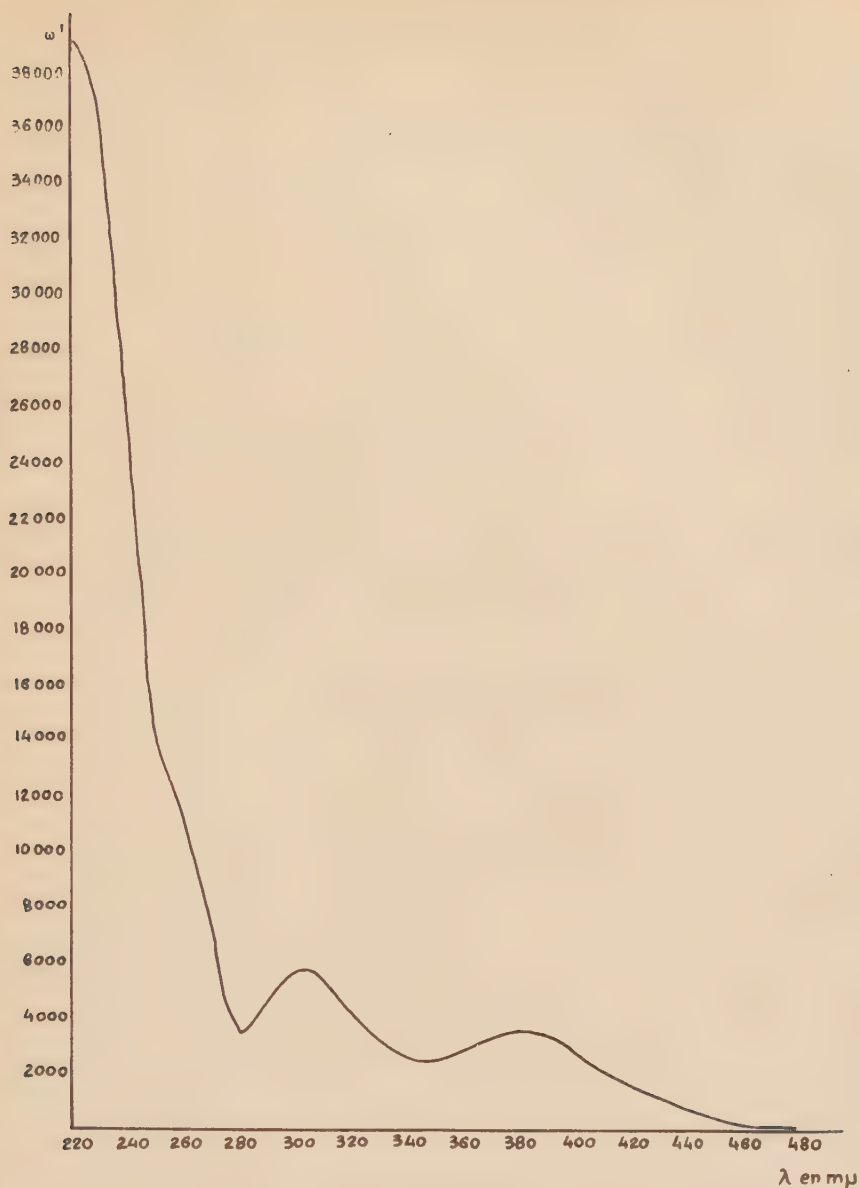


Fig. 8 - Spectre ultraviolet des cristaux F 243°- 244°.

La chromatographie immédiate de cette solution sépare deux fractions :

a) l'éther de pétrole élue une huile (61%; Eb. 90-118°/0,7 mm) sans réaction ni sur la semicarbazide, ni sur la dinitrophénylhydrazine, qui cristallise progressivement en acide N-pivalyl anthranilique. C'est dans cette fraction que devrait se trouver l'aldéhyde. Il faut noter que l'acide n'y était pas présent au départ car il n'est éluable de l'alumine que par l'acétate d'éthyle bouillant ;

b) le chloroforme élue un corps cristallisé incolore (F. 225°-226° $\lambda_{\max}$: 249 mμ ($\log \epsilon = 3,75$) et 288 mμ ($\log \epsilon = 3,1$) (figure 9)). Une fois de plus , composition centésimale et masse moléculaire s'accordent avec la formule $C_{12}H_{15}NO_2$ - Ce corps est soluble dans la soude N.

Alors que la formation de l'acide N-pivalyl anthranilique trouvé dans la

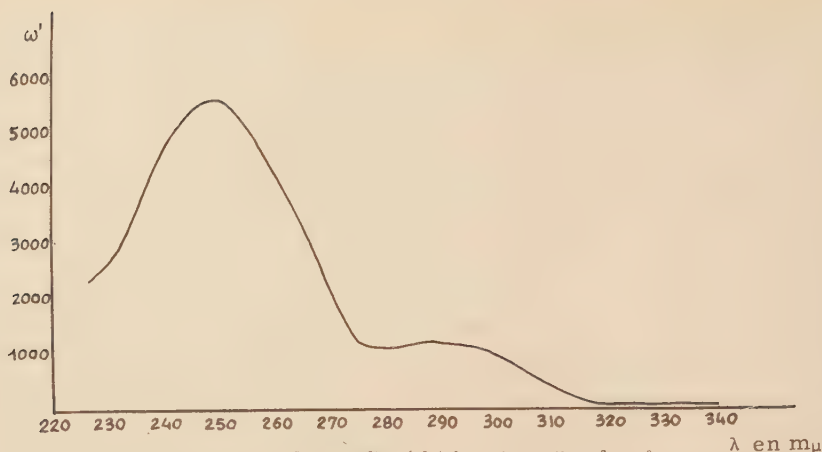


Fig. 9 - Spectre ultraviolet des cristaux F 225°-227°.

fraction acide de l'oxydation par les deux peracides est aussi rapide que l'oxydation elle-même, sa formation lente dans la partie neutre pourrait s'interpréter comme une autoxydation de l'aldéhyde correspondant, peut être catalysée par des peroxydes. Mais nous n'avons pu en aucun cas mettre directement cet aldéhyde en évidence dans cette partie neutre.

PARTIE EXPERIMENTALE

(Les points de fusion supérieurs à 150° sont pris au bloc Köffler).

DIMETHYL-3,3 PENTANONE-2

On introduit goutte à goutte le diméthyl-3,3 pentanol-2 (24) (25,55 g) dans le mélange oxydant ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2O (21,4 g), H_2SO_4 concentré (15,8 cm^3) avec agitation mécanique. Puis on chauffe 2 h au bain-marie bouillant, et on entraîne la cétone à la vapeur. La phase organique lavée à l'eau est séchée sur K_2CO_3 .

A la cétone brute (19,92 g - 0,174 M), en solution dans l'alcool (50 cm^3), on ajoute le chlorhydrate de semicarbazide (21,24 g - excès de 10%) dans l'eau (16 cm^3) puis l'acétate de sodium (26,03 g - excès de 10%) dans l'alcool aqueux (6 + 6 cm^3). Après ébullition pendant une demi-heure et dilution à l'eau, la semicarbazone cristallise (F : 139°; 17,45 g). Par hydrolyse (HCl (13 cm^3 ; H_2O (30 cm^3) - 10 minutes sur bain-marie bouillant), on obtient la diméthyl-3,3 pentanone-2 purifiée (Eb. 132° - 11,90 g).

TERT-PENTYL-2 INDOLE

A la cétone ci-dessus (6,77 g; 59,4 mM) on ajoute la phénylhydrazine (6,41 g - 59,4 mM), et on laisse deux heures sur bain-marie bouillant. On décante l'eau formée, on mélange intimement à ZnCl_2 anhydre pulvérulent (51 g) et on porte 4 minutes à 170°. On extrait au benzène (5,37 g) et on distille dans un courant d'azote. On obtient une huile (2,87 g) :

$\text{Eb}_{0,1 \text{ mm}}$ 120°-125°

Spectre ultra-violet : λ_{max} : 225 $\text{m}\mu$ (log ϵ = 4,28)
et 274 $\text{m}\mu$ (log ϵ = 3,94)

Analyse : $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}$ = 187 calculé % N : 7,5
trouvé % N : 8,12

Picrate - paillettes rouges, F : 96°5-97°5.

Analyse : $C_{19}H_{20}O_7N_4 = 416$

calculé %	C : 54,8	H : 4,82	N : 13,48
trouvé %	C : 55,4	H : 4,97	N : 13,45

Oxydation du tert-pentyl-2 indole par l'acide perbenzoïque - On met en contact l'indole (2,53 g; 13,5 mM), à 0° avec l'acide perbenzoïque (63 mM) dans le chloroforme (250 cm³) (voir figure n°2). La réaction terminée, on traite par une solution aqueuse d'iodure de potassium puis d'hyposulfite de sodium, on lave à l'eau, puis à la soude 5%, puis à l'eau jusqu'à neutralité.

Le résidu neutre (2,12 g), traité par H₂SO₄ 50% en volume (15 cm³), est maintenu sur bain-marie bouillant 1,5 h. Le distillat obtenu après entraînement à la vapeur est neutralisé à la soude N (6,4 cm³), évaporé à sec (860 mg). Le sel de sodium est converti en ester paraphénylphénacyle de la façon habituelle (25) (284 mg à partir d'1 mM de l'acide) F. 79-84°, purifié sur gel de silice et recristallisé dans l'éther de pétrole (200 mg) F. 85-86°, (non modifié par mélange avec un dérivé authentique, F. 86°, de l'acide diméthyléthylacétique).

Analyse : $C_{20}H_{22}O_3 = 310$

calculé %	C : 77,41	H : 7,09
trouvé %	C : 77,46	H : 7,27

ACIDE N-PIVALYL ANTHRANILIQUE

A l'anthranilate de sodium sec (30 mM; à partir de 4,11 g d'acide) on ajoute le chlorure de pivalyle (3,96 g; excès 10%), et on laisse 4 h sur bain-marie bouillant; on filtre et évapore à sec (4,55 g; F. 150°-154°). On recristallise dans le mélange chloroforme-éther de pétrole (3,92 g; F. 154°-156°) et, avec un moins bon rendement, dans l'acide acétique (3 g; F. 156°-158°).

Analyse : $C_{12}H_{15}O_3N = 221$

calculé %	C : 65,16	H : 6,79	N : 6,34
trouvé %	C : 64,92	H : 6,83	N : 6,33

Ester paraphénylphénacyle - Préparé selon le mode habituel (25), est recristallisé dans l'alcool F. 169-170°.

Analyse : $C_{26}H_{25}O_4N = 415$

calculé %	C : 75,18	H : 6,03	N : 3,37
trouvé %	C : 75,04	H : 6,21	N : 3,52

ALCOOL N-PIVALYL ORTHOAMINO BENZYLIQUE

A l'alcool orthoaminobenzylrique (2 g) (26) dans la pyridine (2 cm³) on ajoute le chlorure de pivalyle (1,95 g) en 3 portions à 10 minutes d'intervalle. On laisse 24 h à froid, on ajoute de l'eau et on extrait au benzène. La solution benzénique est lavée à la soude N, à l'eau jusqu'à neutralité, et évaporée à sec (2,325 g). Une fraction du résidu cristallise au bout de quelques jours après distillation (F. 66-70°) et les germes ainsi obtenus permettent de recristalliser le produit brut dans le cyclohexane F. 69-70°5.

Analyse : $C_{12}H_{17}NO_2 = 207$

calculé %	C : 69,56	H : 8,21	N : 6,76
trouvé %	C : 69,59	H : 8,38	N : 6,98

ALDEHYDE N-PIVALYL ANTHRANILIQUE

On ajoute l'alcool ci-dessus (1 g) à du MnO₂ "B" (27) en suspension dans l'éther anhydre (15 cm³), on agite 3 jours à température ambiante, on filtre,

évapore à sec et distille le résidu. On obtient une huile très mobile (822 mg),
Eb/2,5 mm = 111-117°.

Analyse : $C_{12}H_{15}NO_2 = 205$

calculé %	C : 70,24	H : 7,31	N : 6,82
trouvé %	C : 70,30	H : 7,31	N : 7,0

Spectre infra-rouge : - CO - : 1675 cm^{-1} (forte)
- CO - NH -, avec chélation : 3260 cm^{-1} ; épaulement à 3190 cm^{-1} (moyennes).

Semicarbazone - Par le chlorhydrate de semicarbazide (121 mg) et l'acétate de sodium (198 mg) dans l'eau (0,35 cm^3), sur l'aldéhyde (205 mg - 1 mM) dans l'alcool (0,35 cm^3). On porte 15 minutes à 70°, on dilue et on laisse cristalliser (226 mg; F. 192°-194°). On recrystallise dans le méthanol à 75% (F. 200°).

Analyse : $C_{13}H_{18}N_4O_2 = 262$

calculé %	C : 59,54	H : 6,87	N : 21,37
trouvé %	C : 59,76	H : 6,83	N : 21,73

2,4-Dinitrophénylhydrazone - Beaux cristaux rouges, lavés dans le méthanol

F. 241°-242°.

Analyse : $C_{16}H_{13}N_5O_5 = 385$

calculé %	C : 56,10	H : 4,93	N : 18,15
trouvé %	C : 55,52	H : 5,10	N : 18,02

Chromatographie - L'éther de pétrole (180 cm^3) élue 90% de l'aldéhyde (250 mg) adsorbé sur une colonne d'alumine (ϕ : 1,5 cm; h = 7 cm).

Traitement par l'acide perbenzoïque - L'aldéhyde, en présence d'un excès d'acide perbenzoïque, à 0°, dans $CHCl_3$, consomme 0,2 molécule de réactif en 2 heures et la réaction s'arrête. Ceci est certainement dû à une impureté réductrice, car après le traitement habituel, on récupère 96% du produit neutre.

Oxydation par Ag_2O - A l'oxyde d'argent fraîchement préparé (2,5 mM) recouvert d'eau et traité par la soude (250 mg) on ajoute l'aldéhyde (2,5 mM) en solution étherée. On porte à ébullition avec agitation pendant 1 heure; on filtre, acidifie le filtrat et extrait à l'éther. On obtient ainsi l'acide N-pivalylanthranilique (422 mg; Rendement 76%) caractérisé par son ester paraphénylphénacyle (F. 169°-170°).

OXYDATION DU TERT-BUTYL-2 INDOLE PAR L'ACIDE PERPHTALIQUE

(Pour mettre en évidence l'acide N-pivalylanthranilique dans la fraction acide, on est amené à utiliser un excès de peracide beaucoup plus faible que dans le cas de la figure n°2. Ceci ralentit la réaction mais ne change pas les résultats).

L'indole (3,4 g - 20 mM) est traité par l'acide perphtalique (58,5 mM) dans l'éther (500 cm^3) à 0°. On arrête la réaction après 17 heures (consommation 2,04 mol. de réactif) par extraction à la soude à 10% glacée (3 x 50 cm^3), suivie d'un lavage à l'eau distillée jusqu'à neutralité.

a) Etude de la fraction acide. On acidifie solution sodique et eaux de lavage, et on recueille les acides précipités par filtration (3,60 g) et extraction du filtrat au chloroforme (0,52 g).

Chromatographie sur papier - Phase mobile : n-butanol saturé par une solution aqueuse 1,5 N en NH_3 et 1,5 N en $(NH_4)_2CO_3$. Révélateur : rouge de méthyle (1/3 de solution alcoolique de rouge de méthyle à 0,1% + 2/3 de tampon phosphate 0,667 M, pH 7). Dans ce système, un échantillon du mélange d'acides donne deux tâches roses sur fond jaune; l'une est due à l'acide phtalique et l'autre (Rf = 0,69) a même Rf que l'acide N-pivalylanthranilique authentique.

On fait alors bouillir à reflux les acides solides secs avec du chloroforme (10 cm³), on filtre après refroidissement, on évapore le chloroforme (370 mg). La répétition de cette opération fournit encore 228 mg. On recristallise les extraits réunis dans le minimum d'acide acétique (238 mg). L'ester paraphénylphénacyle préparé de la façon habituelle est purifié par adsorption sur gel de silice et élution par le benzène à 75%, puis recristallisation dans l'alcool.

F. 170°-172°, non abaissé par mélange avec un échantillon authentique.

Analyse : C₂₆H₂₅O₄N = 415

calculé %	C : 75,18	H : 6,03	N : 3,37
trouvé %	C : 74,87	H : 6,22	N : 3,46

b) Etude de la fraction neutre. On évapore à sec la phase étherée, on la dissout dans l'éther de pétrole, et après quelques jours commence la précipitation de cristaux jaunes, presque insolubles dans l'éther de pétrole (1,035 g F. 110°-116°). Par concentration des eaux-mères, on a après deux mois une nouvelle récolte (1,172 g, F. 74-96°).

Ces deux fractions sont purifiées par digestion dans l'éther de pétrole bouillant et recristallisées dans le benzène.

F. 185-190°.

Analyse C₁₂H₁₅NO₂ = 205

calculé %	C : 70,24	H : 7,31	N : 6,82
trouvé %	C : 70,80	H : 7,29	N { 7,08 7,00

Masse moléculaire par cryoscopie dans le camphre : 205,212

Spectre ultraviolet : λ_{max} : 301 mμ (log ε = 3,6)

Spectre infrarouge : -CO- : 1670 cm⁻¹; -CO-NH-, avec chélation : 3250 cm⁻¹.

Hydrolyse acide - On chauffe ce composé (150 mg) dans l'acide benzène sulfonique (2 g) au bain-marie pendant 1h15. On entraîne à la vapeur, et neutralise le distillat à la soude 0,1 N (2,56 cm³ - Rendement : 34% en acide volatil). A partir de ce sel de sodium, on caractérise l'acide pivalique par son ester paraphénylphénacyle F. 112°-113°, identique à un spécimen authentique.

Réaction en présence d'acétate de sodium et d'acide acétique - On fait bouillir à reflux pendant 15 minutes une solution des cristaux jaunes (90 mg), d'acétate de sodium (29 mg) et d'acide acétique (0,03 cm³) dans l'eau (0,36 cm³) et l'alcool (1,1 cm³). On obtient des cristaux d'un jaune plus pâle (49 mg; F. 234°-236°), qu'on recristallise dans le mélange cyclohexane-éther de pétrole.

F. 243°-244°.

Analyse : C₂₄H₂₈N₂O₃ = 392

calculé %	C : 73,47	H : 7,14	N : 7,14
trouvé %	C : 73,46	H : 7,77	N : 7,22
	73,55	7,03	7,45
			7,46

Masse moléculaire par cryoscopie dans le camphre : 380

Spectre ultraviolet : λ_{max} : 302 mμ (log ε : 3,8)

380 mμ (log ε : 3,6)

Réaction sur le borohydrure de sodium - On abandonne une nuit des cristaux jaunes (110 mg) et le borohydrure de sodium recristallisé (63 mg) dans l'alcool (5 cm³). On acidifie par HCl 2N, ajoute un excès d'eau, filtre (71 mg - F. 241°), et recristallise dans le mélange cyclohexane-éther de pétrole : losanges jaunes, F. 238 - 239°, abaissant le point de fusion du composé précédent, et d'aspect différent.

Analyse : trouvé % C : 73,38 H : 7,38 N : 7,38

Par extraction alcaline des eaux-mères des cristaux jaunes F. 185°-190° après 5 mois, on a obtenu de l'acide N-pivalylanthranilique qui a été caractérisé de la façon habituelle.

Recherche de l'aldéhyde N-pivalylanthranilique dans la fraction neutre directement après l'oxydation - On met en contact pendant 3 heures à 0° l'indole (692 mg - 4 mM) et l'acide perphthalique (10,5 mM) dans l'éther (100 cm³). La consommation de réactif est de 2,04 moles par mole d'indole. On extrait les acides à la soude à 10% glacée (2 x 15 cm³), on lave jusqu'à neutralité. Le résidu neutre (630 mg) est traité en solution alcoolique par le chlorhydrate de semicarbazide (372 mg) et l'acétate de sodium (608 mg) dans l'eau (1,1 cm³) et on maintient le mélange homogène un quart d'heure au bain-marie à 70°. Après addition d'eau et refroidissement au frigidaire, on obtient des cristaux jaune pâle (536 mg). Par recristallisation dans le mélange benzène-chloroforme, on obtient une poudre F. 163-166°. Dans le méthanol, on obtient de magnifiques tables rectangulaires jaunes. C'est un méthanolate qui se décompose à 136°.

Analyse : C₁₃H₁₈N₄O₂, CH₃OH = 294

calculé % C : 57,2 H : 7,49 N : 18,4

trouvé % C : 56,2 H : 7,62 N : 19,2

Par séchage on obtient une poudre amorphe :

Analyse : C₁₃H₁₈N₄O₂ = 262

calculé % C : 59,5 H : 6,9 N : 21,4

trouvé % C : 58,8 H : 7,0 N : 20,6

OXYDATION DU TERT-BUTYL-2 INDOLE PAR L'ACIDE PERBENZOÏQUE

On procède à l'oxydation comme dans le cas du tert-pentyl-2 indole, à partir du tert-butyl-2 indole (1,730 g - 10 mM) et de l'acide perbenzoïque (40 mM) en solution chloroformique à 0°. Après 15 minutes de contact à 0°, il y a fixation de 2,6 atomes d'oxygène, et le système n'évolue plus par la suite.

Le résidu neutre (1,314 g), traité par H₂SO₄ 50% en volume (10 cm³) est maintenu sur bain-marie bouillant pendant 1,5 h. Le distillat obtenu après entraînement à la vapeur est neutralisé à la soude N (3,4 cm³), évaporé à sec (428 mg). Le pivalate de sodium est converti en ester paraphénylphénacyle de la façon habituelle.

F. 111°5 - 112°5 (non modifié par mélange avec un dérivé authentique, F. 112°-113°, de l'acide pivalique).

Analyse : C₁₉H₂₀O₃ = 296

calculé % C : 77,02 H : 6,75

trouvé % C : 76,75 H : 6,80

L'oxyde d'argent (2,27 mM) en milieu alcalin (227 mg de NaOH) oxyde le résidu neutre ci-dessus (480 mg; 2,27 mM) en acide N - pivalylanthranilique (234 mg; Rendement 46%) caractérisé par son ester paraphénylphénacyle :

F. 169°-170°

Analyse : C₂₆H₂₅O₄N = 415

calculé % C : 75,18 H : 6,03 N : 3,37

trouvé % C : 74,62 H : 6,11 N : 3,58

Chromatographie - Le tert-butyl-2 indole (40 mM - 6,92 g) est mis en contact à 0° avec l'acide perbenzoïque (110 mM) dans le chloroforme. Après 15 minutes (consommation de réactif : 2,28 moles/mole d'indole) on détruit l'excès de réactif par KI de la façon habituelle. Le résidu neutre (5,37 g) est dissous dans l'éther de pétrole (insoluble : 350 mg), et la solution passée sur une colonne d'alumine (70 g) :

Fractions	Eluant.	Volume	Poids	Nature
A	Ether de pétrole	200 cm ³	2, 70 g	Huile
B	Ether de pétrole	200 cm ³	0, 30 g	Huile
C	Ether de pétrole	300 cm ³	0, 04 g	Huile
D	Benzène	700 cm ³	0, 50 g	Résine
E	Chloroforme	350 cm ³	0, 28 g	F. 212°-216°

Fraction A - Elle ne donne pas de semicarbazone. Une partie (2,48 g) est distillée sous 0,7 mm. On sépare ainsi (a) Eb. 90°-105° (1,40 g) et (a') Eb. 105°-118° (0,73 g); à partir de (a), on n'a pu faire cristalliser, ni semicarbazone, ni dinitrophénylhydrazone. (a) et (a') cristallisent progressivement F. 153°-156°.

Fractions B et C - Elles cristallisent également (F. 151°-155°) et on les réunit à A. La partie cristallisée des fractions A+B+C est purifiée par adsorption sur alumine, découpage de la zone noire supérieure, et élution du reste de l'alumine par l'acétate d'éthyle bouillant. Le point de fusion final F. 156°5-157°5 n'est pas modifié par mélange avec un spécimen authentique d'acide N-pivalylanthranilique. Même observation pour l'ester paraphénylphénacyle (F. 169°).

Fraction D - Résine brune incristallisable.

Fraction E - Le produit brut est recristallisé dans le chloroforme puis l'alcool. Cristaux incolores.

F. 225°-227°

Analyse : $C_{12}H_{15}NO_2 = 205$

calculé % C : 70,24 H : 7,31 N : 6,82

trouvé % C : 70,56 H : 7,65 N : 7,00

Masse moléculaire par cryoscopie dans le camphre : 200

Spectre ultraviolet : λ_{max} : 249 m μ (log ϵ : 3,75)

288 m μ (log ϵ : 3,1)

Spectre infrarouge (figure 10).

Ce produit est soluble en milieu basique, mais se comporte comme un acide très faible.

Dans la fraction acide de l'oxydation, on met en évidence l'acide N-pivalylanthranilique par chromatographie sur papier.

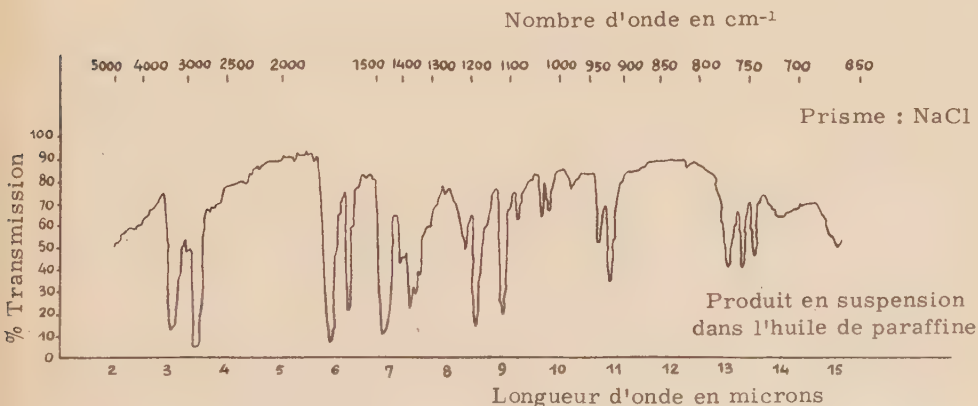


Fig. 10 - Spectre infrarouge des cristaux F 225°-227°

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - A. QUILICO et L. PANIZZI - *Berichte*, 76, 348 (1943).
- 2 - A. QUILICO et C. CARDANI - *Rend. Acc. Lincei*, 9, 220-8 (1950).
- 3 - A. QUILICO et L. PANIZZI et V. ROSNATI - *Gazetta Chim. It.*, 78, 111 (1948).
- 4 - A. QUILICO et C. CARDANI - *Gazetta Chim. It.*, 83, 155 (1953).
- 5 - A. QUILICO et C. CARDANI et F. PIOZZI - *Gazetta Chim. It.*, 83, 179 (1953).
- 6 - A. QUILICO et C. CARDANI et F. PIOZZI - *Gazetta Chim. It.*, 85, 3 (1955).
- 7 - A. QUILICO et C. CARDANI et F. PIOZZI - *Gazetta Chim. It.*, 86, 211 (1956).
- 8 - A. QUILICO et C. CARDANI et F. PIOZZI - *Rend. Acc. Lincei*, VIII 17, 315 (1955).
- 9 - A. QUILICO et C. CARDANI et F. PIOZZI - *Rend. Acc. Lincei*, VIII 22, 411 (1957).
- 10 - A. QUILICO, F. PIOZZI et C. CARDANI - *Gazetta Chim. It.*, 88, 125 (1958).
- 11 - A. QUILICO, C. CARDANI, G. CASNATI et B. CAVALLERI - *Rend. Acc. Lincei*, VIII 24, 488 (1958).
- 12 - S. DAVID et J. MONNIER - *Bull. Soc. Ch. Fr.*, 797 (1955).
- 13 - S. DAVID et J. MONNIER - *C. R. Acad. Sci.*, 243, 597 (1956).
- 14 - S. DAVID et J. MONNIER - *Bull. Soc. Ch. Fr.*, 1057 (1957).
- 15 - B. WITKOP et H. FIEDLER - *Lieb Ann*, 558, 91 (1947).
B. WITKOP - *J. A. C. S.*, 72, 2311 (1950).
B. WITKOP et J. B. PATRICK - *J. A. C. S.*, 73, 2196 (1951).
- 16 - E. R. HISCOX et N. J. BERRIDGE - *Nature*, 166, 522 (1950).
- 17 - N. L. DRAKE et J. BRONITSKY - *J. Am. Soc.*, 52, 3715 (1930).
- 18 - J. G. KIRCHNER, A. N. PRATER et A. J. HAAGEN - *Engineering Chemistry*, Analytical Edition 18, 31 (1946).
- 19 - A. COURTOT - *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 35, 113 (1906).
- 20 - H. FOLKERS et H. ADKINS - *J. Am. Chem. Soc.*, 53, 1416 (1931).
- 21 - H. KWART et R. K. MILLER - *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 5403 (1954).
- 22 - L. J. BELLAMY, - *The infra red spectra of complex molecules*, 1ere édition, Methuen, Londres (1954) p. 43.
- 23 - PLANCHER - *Rend Acc Lincei*, 5 11 p. 186.
- 24 - G. EDGAR, G. CALINGAERT et R. E. MARKER - *Am. Chem. Soc.*, 51, 1487 (1929).
- 25 - N. L. DRAKE et J. BRONITSKY - *Am. Chem. Soc.*, 52, 3715 (1930).
- 26 - ROBERT F. NYSTROM et WELDON G. BROWN - *Am. Chem. Soc.*, 69, 2548, (1947).
- 27 - M. HARFENIST, A. BAVLEY et W. A. LAZIER - *Journal of Organic Chemistry* 19, 1611 (1954).
- 28 - R. L. SHRINER, W. C. ASHLEY et E. WELCH - *Organic Syntheses* 22, 98, (1942).
- 29 - B. WITKOP et J. B. PATRICK - *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 713 (1951).

DEUXIEME THESE

Proposition donnée par la Faculté :

CONTRIBUTION A L'ETUDE BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE
DE L'ACIDE γ -AMINO BUTYRIQUE

Vu et approuvé :

Nancy, le 12 Février 1959

Le Doyen de la
Faculté des Sciences :

E. URION

Vu et Permis d'imprimer :

Nancy, le 13 Février 1959

Le Recteur de
l'Université de Nancy :

G. MAYER

IMP. LOUIS-JEAN — GAP

Dépôt légal n° 99 — 1959

